昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, April 2008, 51(3):277 – 283 ISSN 0454-6296

kdr 突变和解毒代谢在 B 型烟粉虱对高效氯氰菊酯抗性中的作用

王利华,吴益东*

(南京农业大学植物保护学院昆虫学系,农业部病虫监测与治理重点开放实验室,南京 210095)

摘要:本研究明确了 *kdr* 突变和解毒代谢在 B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* 对高效氯氰菊酯抗性中的作用。B 型烟粉虱 NJ 品系相对于烟粉虱敏感品系(SUD-S,非 B 型)对高效氯氰菊酯有 266 倍的抗性。对 NJ 品系用高效氯氰菊酯进行群体筛选获得抗性为 811 倍的 NJ-R1 品系,对 NJ 品系进行单对交配筛选获得抗性达 2 634 倍的 NJ-R2 品系。在 NJ, NJ-R1 和 NJ-R2 品系间,酯酶、多功能氧化酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性无显著差异,说明在筛选过程中解毒代谢没有发生变化。PASA 检测结果表明,NJ-R2 品系钠离子通道基因 L925I 突变(*kdr* 突变)频率为 100%,NJ-R1 品系为 80.6%,NJ 品系为 55%。由此可见,*kdr* 突变频率的增加是 B 型烟粉虱种群对高效氯氰菊酯抗性上升的主要原因。在 NJ, NJ-R1 和 NJ-R2 品系中,增效醚(PBO)对高效氯氰菊酯的增效作用均为 20 倍左右,而 PBO 对 SUD-S 品系没有任何增效作用。PBO 能同时抑制烟粉虱的多功能氧化酶和酯酶,通过与 TPP 增效作用进行对比表明,在 B 型烟粉虱中 PBO 所产生的增效作用主要来源于对酯酶的抑制。因此,B 型烟粉虱品系(NJ-R2,NJ-R1 和 NJ)与非 B 型 SUD-S 品系相比存在 20 倍左右的先天抗性,该先天抗性主要与 B 型烟粉虱的特有酯酶有关。在 B 型烟粉虱品系对高效氯氰菊酯的抗性中,抗性水平完全由 *kdr* 突变频率高低所决定。

关键词:B 型烟粉虱;高效氯氰菊酯;抗药性;解毒代谢;*kdr* 突变

中图分类号:Q966 **文献标识码**:A **文章编号**:0454-6296(2008)03-0277-07

Relative significance of the *kdr* mutation and detoxifying metabolism to alpha-cypermethrin resistance in B-type whitefly, *Bemisia tabaci*

WANG Li-Hua, WU Yi-Dong* (Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Pest Insects, Ministry of Agriculture, Department of Entomology, College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Relative contribution of the *kdr* mutation and detoxifying metabolism to alpha-cypermethrin resistance in B-type *Bemisia tabaci* was investigated. The field-collected NJ strain of B-type *B. tabaci* has 266-fold resistance to alpha-cypermethrin compared with the SUD-S strain (non B-type). The NJ-R1 (811-fold) and NJ-R2 (2 634-fold) strains were derived from the NJ strain by using mass selection and single pair family selection with alpha-cypermethrin, respectively. The activities of esterase (EST), mixed function oxidase (MFO) and glutathione S-transferase (GST) were similar among the NJ, NJ-R1 and NJ-R2 strains, while the frequency of L925I mutation of *para*-homologous sodium channel gene (*kdr* mutation) was 55%, 80.6% and 100% in the NJ, NJ-R1 and NJ-R2 strains, respectively. This suggested that the detoxifying metabolism did not increase during selection with alpha-cypermethrin, and the enhanced resistance to alpha-cypermethrin in the NJ-R2 strain of B-type *B. tabaci* was mainly due to the increased frequency of *kdr* mutation. Piperonyl butoxide (PBO) is a MFO and EST inhibitor. The synergism ratios of PBO to alpha-cypermethrin in the NJ, NJ-R1 and NJ-R2 strains were all about 20-fold, but no synergism in the SUD-S strain was found. The synergism ratio of triphenyl phosphate (TPP) to alpha-cypermethrin in the NJ strain was

基金项目:国家重点基础研究发展计划'973'项目(2006CB102003)

作者简介:王利华,女,1979 年生,博士研究生,研究方向为昆虫分子毒理学,E-mail:wlhyang@sohu.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail:wyd@njau.edu.cn

收稿日期 Received:2007-09-10;接受日期 Accepted:2007-12-24

12-fold, implying that the synergism of PBO in the B-type whitefly is mainly due to inhibition of esterase activity. It is concluded that B-type *B. tabaci* has about 20-fold inherent resistance to alpha-cypermethrin (mainly conferred by EST) compared with the non-B type SUD-S strain, and the determinant factor for alpha-cypermethrin resistance in B-type *B. tabaci* is *kdr* mutation frequency.

Key words: *Bemisia tabaci* B-type; alpha-cypermethrin; resistance; detoxifying metabolism; *kdr* mutation

拟除虫菊酯是烟粉虱 *Bemisia tabaci* 防治中常用的一类杀虫剂,但是由于大剂量、无节制的使用,很快在田间发现烟粉虱对该类杀虫剂产生了高水平的抗性。美国加利福尼亚地区烟粉虱对氯菊酯和氯氰菊酯分别产生了 63.2 和 3.6 倍的抗性(Horowitz *et al*.,1988);苏丹、以色列、巴基斯坦等地棉花上的烟粉虱对氯氰菊酯、醚菊酯的抗性倍数从 4 倍到 56 倍不等(Cahill and Byrne,1995);巴基斯坦棉花上的烟粉虱对溴氰菊酯、甲氰菊酯、功夫和联苯菊酯有几倍到几百倍的抗性(Ahmad *et al*.,2002);在印度,烟粉虱对氯氰菊酯产生了 5 倍到 45 倍的抗性(Kranthi *et al*.,2002)。在我国,南京和新疆地区 B 型烟粉虱也对拟除虫菊酯产生了高水平的抗性(王利华和吴益东,2004;Ma *et al*.,2007),特别是新疆地区的 B 型烟粉虱对联苯菊酯的抗性高达 2 200 倍,对氯氰菊酯的抗性高达 6 200 倍(Ma *et al*.,2007)。

昆虫对拟除虫菊酯的抗性机理主要有两方面,一是钠离子通道基因突变引起靶标敏感性下降,即击倒抗性(knock-down resistance, kdr);二是代谢酶包括酯酶、多功能氧化酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性上升导致解毒作用增强,即代谢抗性。自 Williamson 等(1996)报道家蝇 *Musca domestica* 对拟除虫菊酯击倒抗性的产生是由于钠离子通道基因发生点突变以来,相继在 5 个目 13 种昆虫中发现了与击倒抗性有关的钠离子通道基因点突变(Soderlund and Knipple,2003)。但是,代谢抗性中的 3 种代谢酶在昆虫对拟除虫菊酯抗性中的作用因试虫品系以及杀虫剂种类的不同而异。棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 对拟除虫菊酯的抗性主要与细胞色素氧化酶 P450 介导的氧化解毒代谢有关(Yang *et al*.,2004;Chen *et al*.,2005);微小牛蜱 *Boophilus microplus* SF 抗性品系对氯菊酯的抗性主要由 *kdr* 突变引起,与酯酶无关(Guerrero *et al*.,2002);桃蚜 *Myzus persicae* 对溴氰菊酯的抗性也主要与 *kdr* 突变有关,在无 *kdr* 突变时,FE4 酯酶扩增仅使桃蚜对溴氰菊酯产生 3~4 倍的抗性,在 *kdr* 突变存在时,对溴氰菊酯的抗性高达 540 倍(Martinez-Torres *et al*.,1999)。

烟粉虱对拟除虫菊酯的抗性机制包括击倒抗性和代谢抗性。Morin 和 Williamson(2002)研究发现 B 型烟粉虱对拟除虫菊酯的抗性与钠离子通道基因 L925I 突变密切相关,田间品系经区分剂量处理存活的雄成虫基因型均为 L925I 突变纯合子。Roditakis 等(2006)发现在 Q 型烟粉虱种群中除了 L925I 突变外,还有 T929V 突变,这两个突变都与烟粉虱对拟除虫菊酯的抗性相关;在同一个体中只存在一种突变,在抗性品系中二者的比例约为 1∶1。Byrne 等(2000)认为 B 型烟粉虱对拟除虫菊酯的抗性与 E0.14 酯酶有关。印度马哈拉施特拉邦烟粉虱为 I 型烟粉虱(Brown *et al*.,1995;柯俊成等,2002),Chavan 和 Nimbalkar(2003)比较该邦阿科拉地区 1999-2000 年间不同月份采集的烟粉虱的酯酶图谱,发现酯酶条带数和条带的亮度与烟粉虱对喹硫磷和氯氰菊酯等杀虫剂的抗性发展呈明显的正相关关系。但是,击倒抗性和代谢抗性在烟粉虱对拟除虫菊酯抗性产生中的相对作用,至今未见相关报道。

本研究以 3 个对高效氯氰菊酯具有相同遗传背景、不同抗性水平的 B 型烟粉虱品系为材料,研究了 *kdr* 突变和解毒代谢与烟粉虱对高效氯氰菊酯抗性的相关性,并推断出 *kdr* 突变和解毒代谢在 B 型烟粉虱对高效氯氰菊酯抗性中的相对作用。

1　材料和方法

1.1　供试昆虫

SUD-S 品系:英国 Rothamsted Research 惠赠,在室内饲养期间不接触任何农药,作为本研究的敏感品系。NJ 品系:2002 年 5 月采自南京农业大学卫岗校区试验田,其生物型为 B 型。NJ-R1 品系:对 NJ 品系的后代进行连续多代的群体筛选后获得。NJ-R2 品系:将 NJ 品系的后代进行单对交配,然后采用 PASA 技术(王利华和吴益东,2004)检测单对交配亲代钠离子通道基因 *kdr* 突变基因型,将父本和母本均为 *kdr* 突变(L925I)纯合子的单对系单独饲养得到 NJ-R2 品系。

1.2　供试药剂

5%高效氯氰菊酯乳油,江苏省农药研究所南京

农药厂生产；99% 增效醚（PBO）原油，英国 Koch-Light 实验有限公司生产；α-乙酸萘酯（α-NA）为中国医药集团上海化学试剂公司产品；固蓝 RR 盐由 Fluka 公司生产，上海化学试剂采购供应站分装；2，4-二硝基氯苯（CDNB）、还原型谷胱甘肽（GSH）、氧化型谷胱甘肽、谷胱甘肽还原酶、考马斯亮蓝 G-250、α-苯基硫脲、α-苯基磺酰氟、2，4-二硫苏糖醇、7-乙氧基香豆素（ECOD）、溴酚兰等均为 Sigma 公司产品；其余试剂为国产分析纯。PCR 扩增所用试剂均购自大连 TaKaRa 公司。

1.3　生物测定

将新鲜棉花叶片打成直径为 3.5 cm 的圆片，在系列浓度药液中浸 10 s，自然状态下晾干；将晾干后的叶片正面向下铺在直径为 3.5 cm 的培养皿中（培养皿内事先倒入 1% 的琼脂）；然后，将 25 头雌成虫接到棉花叶片上，盖上盖子，1 h 后检查接入雌成虫的状况，若已死亡不计入接入虫数中；检查完毕后将培养皿倒置于 27℃、相对湿度 60% 的培养箱中，48 h 后检查死亡率。每个浓度设 3 个重复。采用机率值分析法计算毒力回归线和致死中浓度 LC_{50}（mg/L）。进行增效作用时，3 个 B 型品系加入 PBO 的终浓度为 100 mg/L，SUD-S 品系加入 PBO 的终浓度为 2 mg/L（加入 PBO 的终浓度根据 PBO 对酯酶的离体抑制中浓度来确定，高浓度 PBO 对 SUD-S 品系具有致死作用）；对所有的烟粉虱品系，TPP 的终浓度均为 100 mg/L。

1.4　酯酶活性测定

取 20 头雌成虫，加入 400 μL 匀浆缓冲液（0.2 mol/L，pH 7.5 的磷酸缓冲液）匀浆；4℃，10 000 × g 离心 20 min 后取上清液作酶液。测定时取 80 μL 酶液，加入 120 μL 底物缓冲液（8 mg 固蓝 RR 盐和 19 mg α-乙酸萘酯溶解于 10 mL 0.1 mol/L，pH 6.0 磷酸缓冲液），在 VERSAmax Molecular Devices 酶标仪上连续记录光密度值 7 min（波长为 450 nm，间隔 20 s 记录 1 次，光密度值区间为 0 ~ 2 OD）。

1.5　谷胱甘肽 S-转移酶活性测定

谷胱甘肽 S-转移酶活性测定参考 Rauchand Nauen（2004）和杨秀清等（2001）的方法。取 40 头雌成虫，加入 400 μL 匀浆缓冲液（0.05 mol/L，pH 7.5 Tris-HCl 缓冲液）匀浆；4℃，10 000 × g 离心 15 min 后取上清液，用一次性注射器过滤，滤液作为酶液。测定时取 100 μL 酶液，加入 100 μL GSH（8 mg GSH 溶于 2 174 μL 0.1 mol/L，pH 6.5 磷酸缓冲液）和 100 μL CDNB（10 μL 120 mmol/L CDNB 加入 990 μL 0.1 mol/L，pH 6.5 磷酸缓冲液），在 VERSAmax Molecular Devices 酶标仪上连续记录光密度值 5 min（波长为 340 nm，间隔 15 s 记录 1 次，光密度值区间为 0 ~ 1 OD）。

1.6　多功能氧化酶活性测定

1.6.1　微粒体溶液的制备：取 10 mg 成虫，加入 1 000 μL匀浆缓冲液（0.1 mol/L，pH 7.8 磷酸缓冲液，含 1 mmol/L α-苯基硫脲，1 mmol/L α-苯基磺酰氟，1 mmol/L EDTA，0.1 mmol/L 4-二硫苏糖醇）匀浆。然后采用差速离心法，4℃，离心 3 次；第一次 5 000 × g 离心 5 min，第二次 10 000 × g 离心 20 min，这两次离心后均取上清，并用一次性注射器过滤上清液；第三次 100 000 × g 离心 60 min，取沉淀。先用 200 μL 重悬液（不含 α-苯基磺酰氟的匀浆缓冲液）重悬沉淀，然后测定各处理中蛋白质的含量，并据此调整第二次加入重悬液的体积，使各处理微粒体溶液蛋白质的终浓度为 0.16 mg/mL。

1.6.2　多功能氧化酶活性测定：多功能氧化酶活性测定参考 Rauch and Nauen（2003）的方法。测定时取 70 μL 微粒体溶液，加入 40 μL ECOD（1 mmol/L），以不加 ECOD 溶液为对照，在 $SPECTRA^{MAX}$ $GEMINI^{XS}$ 荧光酶标仪上读数（激发波长 390 nm、发射波长 465 nm），作为第一次读数结果保存。然后分四步进行。第一步，取出酶标板，将酶标板中各反应液转移到相应的 Eppendorf 管中；再加入 10 μL NADPH（9.6 mmol/L，用 0.1 mol/L pH 7.8 磷酸缓冲液配制），置于 30℃气浴恒温摇床上，振荡温育 30 min。第二步，取出 Eppendorf 管，每管加入 10 μL（0.5 U）谷胱甘肽还原酶和 10 μL 氧化型谷胱甘肽（30 mmol/L），室温温育 10 min。第三步，在每管中加入 140 μL 乙腈溶液（50% V/V，溶于 0.05 mol/L pH 10.0 Tris-base 溶液中）终止反应，并快速离心 5 s。第四步，将 Eppendorf 管中溶液转移到酶标板上，并读数，作为第二次读数结果。数据处理时，以第二次读数减去第一次读数，再减去第一次读数时对照（不加 ECOD 溶液）的荧光单位值，即为样品的测定值。

1.7　蛋白质含量的测定

采用 Bradford（1976）考马斯亮蓝 G-250 法，以牛血清蛋白（BSA）作标准曲线。

1.8　PASA 检测

烟粉虱 *kdr* 突变的 PASA 检测依据王利华和吴益东（2004）的方法。

2 结果与分析

2.1 生物测定

高效氯氰菊酯对 NJ，NJ-R1，NJ-R2 和 SUD-S 品系的生物测定结果见表 1 所示。SUD-S 品系对高效氯氰菊酯非常敏感，其 LC_{50} 为 1 mg/L 左右。相对于 SUD-S 品系，NJ-R2 对高效氯氰菊酯的抗性最高，达到 2 634 倍；NJ 品系的抗性最低，为 266 倍；NJ-R1 品系的抗性为 811 倍。

表 1 高效氯氰菊酯对 NJ，NJ-R1，NJ-R2 和 SUD-S 品系的毒力及增效剂 PBO 和 TPP 的增效作用

Table 1 Toxicity of alpha-cypermethrin to NJ，NJ-R1，NJ-R2 and SUD-S strains of *Bemisia tabaci*，and synergism of PBO and TPP to alpha-cypermethrin

品系 Strain	药剂/增效剂 Insecticide/synergist	斜率 Slope（± *SE*）	LC_{50}（mg/L）（95% CL）	抗性倍数 RR	增效倍数 SR
NJ-R2	Alpha-cypermethrin	1.79 ± 0.27	2 740（2 199 – 3 814）	2 634	–
	Alpha-cypermethrin + PBO	1.40 ± 0.33	154（113 – 207）	149	18
NJ-R1	Alpha-cypermethrin	1.68 ± 0.25	844（694 – 1057）	811	–
	Alpha-cypermethrin + PBO	2.16 ± 0.37	42.0（33.2 – 62.6）	40	20
NJ	Alpha-cypermethrin	2.37 ± 0.33	277（241 – 337）	266	–
	Alpha-cypermethrin + PBO	2.10 ± 0.27	14.4（9.8 – 19.7）	14	19
	Alpha-cypermethrin + TPP	1.13 ± 0.17	22.7（14.6 – 34.8）	22	12
SUD-S	Alpha-cypermethrin	1.14 ± 0.18	1.04（0.65 – 1.69）	1	–
	Alpha-cypermethrin + PBO	1.69 ± 0.24	1.37（0.86 – 3.65）	1.3	0.8

抗性倍数 = LC_{50}（抗性品系）/LC_{50}（SUD-S）；增效倍数 = LC_{50}（药剂）/LC_{50}（药剂 + 增效剂）。RR = LC_{50}（resistant strains）/LC_{50}（SUD-S）；SR = LC_{50}（insecticide alone）/LC_{50}（insecticide + synergist）.

在 NJ，NJ-R1 和 NJ-R2 这 3 个 B 型烟粉虱品系中，PBO 对高效氯氰菊酯有明显的增效作用，其增效倍数均为 20 倍左右。使用 PBO 后，NJ-R2 的抗性从 2 634 倍降到 149 倍，NJ-R1 的抗性从 811 倍降到 40 倍，NJ 品系的抗性从 266 倍降到 14 倍。在 SUD-S 品系中，PBO 没有增效作用。与非 B 型的 SUD-S 品系相比，B 型烟粉虱存在 20 倍左右的代谢抗性。羧酸酯酶抑制剂 TPP 在 NJ 品系中对高效氯氰菊酯的增效倍数为 12 倍，比 PBO 的增效作用略低，这表明在 B 型烟粉虱中 PBO 所产生的增效作用主要来源于对酯酶的抑制。

2.2 代谢酶活性比较

NJ，NJ-R1 和 NJ-R2 品系的酯酶、多功能氧化酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性见表 2 所示。酯酶和多功能氧化酶活性在 3 个品系间没有显著差异，谷胱甘肽 S-转移酶活性在 NJ 和 NJ-R1 间无显著差异，在抗性最高的 NJ-R2 品系中最低。

表 2 NJ，NJ-R1 和 NJ-R2 品系的解毒代谢酶活性

Table 2 Detoxification enzyme activities of NJ，NJ-R1 and NJ-R2 strain of *Bemisia tabaci*

品系 Strain	酯酶活性 Esterase activity [pmol/(min·mg)]	多功能氧化酶活性 Mixed function oxidase activity [pmol/(min·mg)]	谷胱甘肽 S-转移酶活性 Glutathione S-transferase activity [nmol/(min·mg)]
NJ	237.66 ± 70.82 a	0.21 ± 0.02 a	110.19 ± 2.32 b
NJ-R1	211.83 ± 46.19 a	0.21 ± 0.11 a	107.39 ± 6.62 b
NJ-R2	254.73 ± 82.56 a	0.27 ± 0.09 a	83.75 ± 4.75 a

表中同列数据（3 次重复的平均值 ± *SE*）后字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著。The data (mean of three replications ± *SE*) within a column followed by the same letter are not significantly different at 0.05 level.

2.3 L925I 突变频率检测

NJ，NJ-R1 和 NJ-R2 品系基因组 DNA L925I 突变的 PASA 检测结果见表 3。NJ-R2 品系 L925I 突变频率为 100%，其个体均为 L925I 突变纯合子；NJ-R1 品系 L925I 基因突变频率为 80.6%，NJ 品系 L925I 基因突变频率比 NJ-R1 低，为 55%；这两个品系均为 L925I 突变杂合品系。

表 3 NJ，NJ-R1 和 NJ-R2 品系 *kdr* 突变（L925I）的基因型

Table 3 The genotypes of *kdr* mutation (L925I) in NJ，NJ-R1 and NJ-R2 strains of *Bemisia tabaci*

品系 Strain	检测总虫数 Total adults detected	基因型 Genotype RR	RS	SS
NJ-R2	15	15	0	0
NJ-R1	18	11	7	0
NJ	20	7	8	5

NJ-R1 和 NJ 数据引自王利华和吴益东（2004）。Data of NJ-R1 and NJ were cited from Wang and Wu (2004).

2.4 *kdr* 突变与解毒代谢在 B 型烟粉虱对高效氯氰菊酯抗性中的相对作用

NJ，NJ-R1 和 NJ-R2 3 个品系来自于同一种群，对高效氯氰菊酯具有不同的抗性水平。酯酶和多功能氧化酶活性在 3 个品系间无显著差异，但是 PBO 作为酯酶和多功能氧化酶抑制剂能使这 3 个品系对高效氯氰菊酯的抗性均下降 20 倍左右，据此推测解毒代谢可为 B 型烟粉虱贡献 20 倍左右的抗性，而且这种抗性是 B 型烟粉虱与生俱来的，主要与 B 型烟粉虱所特有的酯酶有关。在筛选过程中抗性的上升主要是由 *kdr* 突变频率增加导致的（表 4）。在 *kdr* 突变纯合品系 NJ-R2 中，PBO 抑制代谢酶后剩余抗性为 149 倍，由此推断 *kdr* 突变可以为 B 型烟粉虱贡献高达 150 倍左右的抗性（表 4）。

表 4　*kdr* 突变和解毒代谢在 B 型烟粉虱对高效氯氰菊酯抗性中的相对贡献

Table 4　Relative contribution of *kdr* mutation and detoxification to alpha-cypermethrin resistance in B-type *Bemisia tabaci*

品系 Strain	解毒代谢的贡献 Detoxification contribution	*kdr* 的贡献 *kdr* contribution	估计抗性倍数 Estimated resistance ratio	实际抗性倍数 Actural resistance ratio
NJ-R2	20	150	3 000	2 634
NJ-R1	20	40	800	811
NJ	20	14	280	266

3 讨论

烟粉虱是我国近年来暴发危害的主要害虫之一，到目前为止，已有 25 个省（直辖市、自治区）发现烟粉虱的危害（邱宝利等，2006）。我国分布的烟粉虱主要有 3 种生物型即 B 型、Q 型和本地型，其中以 B 型分布最广、危害最重；本地型在浙江、湖南、湖北、广东等地均有报道，为我国土著生物型，至今为止，没有这些生物型暴发危害的报道，而 Q 型仅在少数地区发现（Zhang *et al*.，2005）。不同生物型烟粉虱可能对同一化学农药的敏感性存在差异。与其他生物型相比，B 型烟粉虱对拟除虫菊酯类农药存在较高的抗性风险。Costa 等（1993）报道 A、B 生物型实验种群对有机磷农药有相同的敏感性，但是 B 生物型对氯氰菊酯的抗性要强的多；Byrne 等（2000）分析了 B 生物型对拟除虫菊酯产生抗性的原因，他们认为 B 型比其他生物型对拟除虫菊酯更容易产生抗性可能与其特有的一条酯酶带 E0.14 对拟除虫菊酯有直接的降解作用有关。本研究结果也表明 B 型烟粉虱对高效氯氰菊酯可能存在 20 倍左右的本底抗性，这也可能是拟虫菊酯类杀虫剂大量使用后 B 型烟粉虱成为优势种群的重要成因。

kdr 突变在 B 型和 Q 型烟粉虱中均存在。尽管 B 型与 Q 型烟粉虱在很多地方是同域分布的，但是由于在自然环境中 B 型与 Q 型存在生殖隔离，几乎没有基因交流，所以 B 型与 Q 型烟粉虱拟除虫菊酯抗性相关的钠离子通道基因点突变是独立起源的，在 B 型烟粉虱中仅有 L925I 突变，在 Q 型烟粉虱中除了 L925I 外，还存在 T929V 突变。这些突变使这两种生物型烟粉虱对拟除虫菊酯均产生了高水平的抗性（Alon *et al*.，2006）。本研究结果也表明，L925I 突变是 B 型烟粉虱对拟除虫菊酯产生抗性的决定性机理，其对抗性的贡献最大可达 150 倍。

本实验测定了不同抗性水平的 B 型烟粉虱的 3 种代谢酶活性，结果表明：酯酶和多功能氧化酶活性在 3 个品系间没有显著差异；谷胱甘肽 S-转移酶活性在 NJ 和 NJ-R1 间无显著差异，在抗性最高的 NJ-R2 品系中却最低。GST 活性在 NJ-R2 品系中活性较低可能与该品系的抗性筛选方法有关，NJ-R2 品系是采用单对交配策略从 NJ 品系中分离得到的，因此该品系 GST 活性较低可能是由于 NJ 品系中不同个体间的差异导致的。由此可见，代谢酶在 B 型烟粉虱对高效氯氰菊酯的抗性发展过程中作用不大。

PBO 对烟粉虱酯酶和多功能氧化酶均有显著的抑制作用（Young *et al*.，2005），因此本研究采用 PBO 作为代谢酶抑制剂；本研究没有采用 DEF 作为酯酶抑制剂，是因为 DEF 本身对烟粉虱具有较高的杀虫活性。在本研究所采用的 3 个不同抗性水平的 B 型烟粉虱品系中，PBO 对高效氯氰菊酯的增效作用相同，说明代谢酶对高效氯氰菊酯抗性的贡献是 B 型烟粉虱所特有的。为了进一步明确 B 型烟粉虱对高效氯氰菊酯的代谢抗性是由哪种代谢酶引起的，我们对 NJ 品系中酯酶和多功能氧化酶的相对作用进行了比较。PBO 和 TPP 对 NJ 品系的增效比分别为 19 倍和 12 倍，说明在 NJ 品系中，PBO 的增效作用大部分是由于酯酶被抑制而引起的，多功能氧化酶所起的作用有限。对于 TPP 的增效作用小于 PBO，可以有两种解释，一是多功能氧化酶确实参与

代谢抗性的形成；二是TPP只抑制了部分酯酶同工酶，TPP对酯酶活性的抑制作用低于PBO；我们倾向于第二种解释。大量的研究结果表明酯酶活性上升是B型烟粉虱对拟除虫菊酯产生抗性的重要原因之一（Horowitz *et al*., 1988；Dittrich *et al*., 1990；Byrne *et al*., 2000；Chavan and Nimbalkar, 2003）。而到目前为止，烟粉虱多功能氧化酶参与拟除虫菊酯代谢抗性的证据大部分来自PBO增效试验的间接推测，所有试验均不能排除PBO的增效作用是由于酯酶活性被抑制。仅有Roditakis等(2006)采用直接测定多功能氧化酶活性的方法得出Q型烟粉虱多功能氧化酶活性上升可能与拟除虫菊酯抗性相关，但是由于该论文作者采用的抗性筛选的起始品系GRMAL对多种杀虫剂具有中到高水平的抗性，特别是对吡虫啉具有高水平抗性，而作者又没有对GRMAL和GRMAL-RP品系间多功能氧化酶活性的差异做出说明，因此GRMAL-RP品系多功能氧化酶活性上升可能是其他杀虫剂筛选的结果。

参考文献（References）

Ahmad M, Afrif MI, Ahmad Z, Denholm I, 2002. Cotton whitefly (*Bemisia tabaci*) resistance to organophosphate and pyrethroid insecticides in Pakistan. *Pest Manag. Sci.*, 58: 203 – 208.

Alon M, Benting J, Lueke B, Ponge T, Alon F, Morin S, 2006. Multiple origins of pyrethroid resistance in sympatric biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 36: 71 – 79.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248 – 254.

Brown JK, Coats SA, Bedford ID, Markham PG, Bird J, Frohlich DR, 1995. Characterization and distribution of esterase electromorphs in the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biochemical Genetics*, 33: 205 – 214.

Byrne FJ, Gorman KJ, Cahill M, 2000. The role of B-type esterases in confering insecticide resistance in the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci*. *Pest Manag. Sci.*, 56: 867 – 874.

Cahill M, Byrne FJ, 1995. Pyrethroid and organophosphate resistance in the tobacco whitefly *Bemisia tabaci*. *Bull. Entomol. Res.*, 85: 181 – 187.

Chavan VM, Nimbalkar SA, 2003. Comparative susceptibility of whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) population of Akola region different insecticides. *Pesticide Research Journal*, 15: 162 – 164.

Chen S, Yang Y, Wu Y, 2005. Correlation between fenvalerate resistance and cytochrome P450 mediated O-demethylation activity in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 98: 943 – 946.

Costa HS, Brown JK, Sivasupramaniam S, Bird J, 1993. Regional distribution, insecticide resistance, and reciprocal crosses between the A and B biotypes of *Bemisia tabaci*. *Insect Sci. Appl.*, 14: 255 – 266.

Dittrich V, Ernst GH, Ruesch O, 1990. Resistance mechanisms in sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Sudan, Turkey, Guatemala, and Nicaragua. *J. Econ. Entomol.*, 83: 1 665 – 1 670.

Guerrero TD, Pruett J, Andrew YL, 2002. Molecular and biochemical diagnosis of esterase-mediated pyrethroid resistance in a Mexican strain of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 28: 1 – 4.

Horowitz AR, Toscano NC, Youngman RR, Georghiou GP, 1988. Synergism of insecticides with DEF in sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.*, 81: 110 – 114.

Ke JC, Chen QN, Wang CX, 2002. A review of taxonomic studies on the *Bemisia tabaci* species complex. *Formosan Entomol.*, 22: 307 – 341. [柯俊成，陈秋男，王重雄，2002. 烟草粉虱种群(*Bemisia tabaci* species complex)分类学综述. 台湾昆虫，22: 307 – 341]

Kranthi KR, Jadhav DR, Kranthi S, Wanjari RR, Ali SS, Russell DA, 2002. Insecticide resistance in five major insect pests of cotton in India. *Crop Protection*, 21: 449 – 460.

Ma D, Gorman K, Devine G, Denholm I, 2007. The biotype and insecticide-resistance status of whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), invading cropping systems in Xinjiang Uygur Autonomous Region, northwestern China. *Crop Protection*, 26: 612 – 617.

Martinez-Torres D, Foster SP, Field LM, Devonshire AL, Williamson MS, 1999. A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Insect Mol. Biol.*, 8: 339 – 346.

Morin S, Williamson MS, 2002. Mutations in the *Bemisia tabaci* para sodium channel gene associated with resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32: 1 781 – 1 791.

Qiu BL, Ren SX, Wen SY, Mandour SN, 2006. Population differentiation of three biotypes of *Bemisia tabaci* in China by DNA polymorphism. *Journal of South China Agricultural University*, 27: 29 – 33. [邱宝利，任顺祥，温硕洋，Mandour SN，2006. 中国3种不同生物型烟粉虱的种群DNA多态性研究. 华南农业大学学报，27: 29 – 33]

Rauch N, Nauen R, 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 54: 165 – 176.

Rauch N, Nauen R, 2004. Characterization and molecular cloning of a glutathione S-transferase from the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34: 321 – 329.

Roditakis E, Tsagkarakou A, Vontas J, 2006. Identification of mutations in the para sodium channel of *Bemisia tabaci* from Crete, associated with resistance to pyrethroids. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 85: 161 – 166.

Soderlund DM, Knipple DC, 2003. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33: 563 – 577.

Wang LH, Wu YD, 2004. A mutation in sodium channel gene associated

with pyrethroid resistance and its detection in *Bemisia tabaci*. *Acta Entomologica Sinica*，47：449－453.［**王利华，吴益东**，2004. **与拟除虫菊酯抗性相关的烟粉虱钠离子通道基因突变及其抗性检测**. **昆虫学报**，47：449－453］

Williamson MS，Martinez-Torres D，Hick CA，Devonshire AL，1996. Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance（kdr）to pyrethroid insecticides. *Mol*. *Gen*. *Genet*.，252：51－60.

Yang XQ，Gao XW，Zheng BZ，2001. Comparison of the activity of the enzymes related to insecticide resistance in *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci*. *Chin*. *J*. *Pestic*. *Sci*.，3：38－43.［**杨秀清，高希武，郑炳宗**，2001. **烟粉虱与温室白粉虱羧酸酯酶、谷胱甘肽转移酶和乙酰胆碱酯酶性质的比较研究**. **农药学学报**，3：38－43］

Yang Y，Wu Y，Chen S，Devine GJ，Denholm I，Jewess P，Moores GD，2004. The involvement of microsomal oxidases in pyrethroid resistance in *Helicoverpa armigera* from Asia. *Insect Biochem*. *Mol*. *Biol*.，34：763－773.

Young SJ，Gunning RV，Moores GD，2005. Effect of pretreatment with piperonyl butoxide on pyrethroid efficacy against insecticide-resistant *Helicoverpa armigera*（Lepidoptera：Noctuidae）and *Bemisia tabaci*（Sternorrhyncha：Aleyrodidae）. *Pest Manag*. *Sci*.，62：114－119.

Zhang LP，Zhang YJ，Zhang WJ，Wu QJ，Xu BY，Chu D，2005. Analysis of genetic diversity among different geographical populations and determination of biotypes of *Bemisia tabaci* in China. *J*. *Appl*. *Entomol*.，129：121－128.

（责任编辑：黄玲巧）